

STRESZCZENIE POPULARNONAUKOWE W JĘZYKU POLSKIM

Podwyższone stężenie amoniaku (hiperamonemia) jest zaburzeniem metabolicznym, które charakteryzuje się nadmiernym stężeniem amoniaku we krwi i jest wspólnym czynnikiem występującym w encefalopatiach hiperamonemicznych, do których należą między innymi ostra i przewlekła encefalopatia wątrobowa (EW), zespół Reye'a i in.

Szczególnie wrażliwy na podwyższone stężenie amoniaku jest centralny układ nerwowy. W mózgu, komórki glejowe – astrocyty są głównym miejscem detoksykacji amoniaku, który przekształcany jest w reakcji enzymatycznej do glutaminy. W warunkach nadmiernego stężenia amoniaku dochodzi do nadmiernej akumulacji glutaminy w astrocytach, co – jak się powszechnie uważa – przekłada się na zaburzenia neurotransmisji glutamatergicznej obserwowane w EW. Powstaje pytanie, czy i w jakim stopniu zaburzenia te są zależne od zmian w dostępności glutaminy jako prekursora puli przekaźnikowej (neuronalnej) glutaminianu.

Głównym astrocytarnym transporterem glutaminy jest należący do układu N, SN1 (SNAT3; *Slc38a3*), który odpowiada za jej transport do sąsiednich neuronów. SN1, jest regulowany na poziomie transkrypcji i translacji. Dotychczas wykazano, że aktywność SN1 jest regulowana przez kinazę białkową C. Ponadto, dane literaturowe wskazują, że istotną rolę w regulacji ekspresji SN1 może pełnić czynnik transkrypcyjny Sp1. Wykazano, że Sp1 pełni rolę aktywatora ekspresji SN1 w nerkach myszy w warunkach kwasicy metabolicznej. W Zakładzie Neurotoksykologii wykazaliśmy obniżenie ekspresji SN1 mRNA oraz poziomu białka SN1 w korze czołowej myszy w modelu ostrej EW. Powyższy efekt obserwowano w mieszanej hodowli astrocytów i neuronów, nie obserwowano go jednak w homogennej hodowli astrocytarnej. Z drugiej strony, ekspresja SN1 w astrocytach traktowanych amoniakiem okazała się niewrażliwa na wyciszenie czynnika transkrypcyjnego Sp1.

Biorąc pod uwagę powyższe dane literaturowe oraz uzyskane przez nas wyniki wstępne, postanowiliśmy zaproponować projekt, w którym planujemy zbadać rolę czynnika transkrypcyjnego Sp1 w regulacji ekspresji transportera SN1 wykorzystując stosowane w Zakładzie Neurotoksykologii hodowle astrocytarne i astrocytarno-neuronalne traktowane amoniakiem oraz skrawki mózgow myszy z wywołaną ostrą encefalopatią wątrobową i hiperamonemią. Zależność ekspresji SN1 od Sp1 zostanie zbadana metodami real-time qPCR oraz Western Blot w hodowlach astrocytarnych i astrocytarno-neuronalnych z wyciszonym Sp1. Wyciszenie uzyskane zostanie przy użyciu sekwencji Sp1 siRNA, lub poprzez zastosowanie inhibitora. Charakterystyka wybranych miejsc wiążących Sp1 pod kątem bycia sekwencjami wzmacniającymi lub wyciszającymi ekspresję genów będzie możliwa dzięki pomiarowi ekspresji genu lucyferazy z zastosowaniem pomiaru luminescencji. Interakcje SN1 z miejscami wiążącymi Sp1 zostaną zbadane z wykorzystaniem metody immunoprecypitacji chromatyny (ang. ChIP), w której wykorzystywane są właściwości wiązania się badanego genu (tu: SN1) z sekwencjami wybranych miejsc wiążących czynnik transkrypcyjny (tu: Sp1). Aktywność SN1 zostanie zbadana poprzez analizę transportu znakowanej izotopowo [³H]Gln w hodowlach traktowanych amoniakiem oraz w skrawkach mózgu myszy w modelu ostrej encefalopatii wątrobowej/hiperamonemii.

Weryfikacja postawionej hipotezy o udziale czynnika transkrypcyjnego Sp1 w regulacji ekspresji transportera SN1 pozwoli na poznanie potencjalnego mechanizmu regulacji ekspresji SN1 w astrocytach, w warunkach omawianej patologii. Ponadto możliwe będzie poszerzenie dotychczasowej wiedzy na temat interakcji astrocyt-neuron. Co więcej, mamy nadzieję pokazać, że pierwotną przyczyną uszkodzeń neuroprzeżywalności glutamatergicznego w badanym schorzeniu są regulowane przez Sp1 zmiany ekspresji SN1.